

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Χρήση πρωτεΐνης πτεράλευρων για την υποκατάσταση του
ιχθυάλευρου στο σιτηρέσιο της τσιπούρας: Επίδραση σε αιματολογικές
παραμέτρους»**

Κολαΐτη Ιωάννα Αγγελική

-ΒΟΛΟΣ 2019-

Εξεταστική Επιτροπή:

Ελένη Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Προστασία Ευζωία Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπουσα**

Ελένη Μήλιου, Καθηγήτρια, Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **Μέλος**

Ιωάννης Καραπαναγιωτίδης, Επίκουρος Καθηγητής, Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και υδάτινου περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια μεταπτυχιακών σπουδών του τμήματος Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά την περίοδο 2017-2019. Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς όλους όσους βοήθησαν στην τέλεση αυτής της εργασίας.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την κα. Έλενα Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία ανέλαβε την επίβλεψη της παρούσας εργασίας, για την αμέριστη βοήθεια και τη συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές κατά τη διάρκεια αυτών των χρόνων.

Ευχαριστώ, επίσης, την κα. Ελένη Μήλιου, Καθηγήτρια του Γεωοπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για τη βοήθεια στην διεξαγωγή εργαστηριακών αναλύσεων και την καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια φοίτησής μου.

Ακόμη ευχαριστώ τον κ Ιωάννη Καραπαναγιωτίδη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη συμβουλευτική της υποστήριξη κατά τη διάρκεια της συγγραφής της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την στήριξη που μου έδειξαν κατά την διάρκεια εκτέλεσης αυτής της πτυχιακής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι υδρόβιοι ζωικοί οργανισμοί χρειάζονται πρωτεΐνες, λιπίδια ανόργανα στοιχεία και βιταμίνες για να διατηρηθούν στη ζωή, να αναπτυχθούν και να επιτελέσουν όλες τις φυσιολογικές τους λειτουργίες. Αυτά τα θρεπτικά στοιχεία παρέχονται στους εκτρεφόμενους οργανισμούς είτε από την πρόληψη της φυσικής τροφής είτε από την κατανάλωση προπαρασκευασμένων τροφών. Ένα από τα ζητήματα που απασχολούν τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών είναι η δυνατότητα ολικής ή μερικής αντικατάστασης των ιχθυαλεύρων και του ιχθυελαίου στη διατροφή των εκτρεφόμενων ιχθύων με εναλλακτικές πηγές πρωτεΐνης.

Κύριος στόχος του πειράματος είναι η ανάλυση και η μελέτη της επίδρασης , της μερικής αντικατάσταση ιχθυαλεύρων με πετράλευρο στους αιματολογικούς παράγοντες των ιχθύων. Στην εργασία υπήρξαν δυο διατροφικές ομάδες, η «FM» που τράφηκε με δίαιτα του εμπορίου και η «HFM50» όπου ταΐστηκε με δίαιτα που είχε γίνει αντικατάσταση του 50% του ιχθυαλεύρου με πετράλευρο. Το προφίλ των δεικτών του αίματος, της γλυκόζης, της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων επηρεάζονται άμεσα από τη διατροφή που ακολουθεί ο οργανισμός, για το λόγο αυτό επιλέχθηκαν ως δείκτες για την αξιολόγηση των βιοφυσικών και βιοχημικών λειτουργιών του οργανισμού. Τα αποτελέσματα του πειράματος έδειξαν μια πτώση στις τιμές και των τριών παραμέτρων στα ψάρια που τράφηκαν με την τροφή «HFM50» συνεπώς συμπεραίνουμε ότι η 50% αντικατάσταση με πετράλευρο δεν καλύπτει της διατροφικές ανάγκες των ψαριών.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	1
1.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	2
1.1.1 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	3
1.2ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	7
1.2.1 ΑΙΜΑ	8
1.2.2 ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ	9
1.3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	11
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	12
2.1 ΓΕΝΙΚΑ	12
2.1.1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	13
2.2 ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	13
2.2.1 ΓΛΥΚΟΖΗ.....	13
2.2.2 ΧΟΛΥΣΤΕΡΟΛΗ	14
2.2.3 ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ	15
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	16
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	17
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	21
4.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	21
4.2ΞΕΝΗΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	22
5.ABSTRACT	26

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Κάποια από τα κυριότερα ζητήματα της διατροφής των εκτρεφόμενων υδρόβιων ζωικών οργανισμών που απασχολούν τον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών προκειμένου αυτός να είναι βιώσιμος είναι τα εξής: οι θρεπτικές απαιτήσεις των διαφόρων εκτρεφόμενων ειδών και η ικανοποίησή τους μέσω της εκτροφής και της εφαρμοσμένης διατροφής τους, η διατροφή των ψαριών και των γεννητόρων των εκτρεφόμενων ειδών, η διατροφική αξία του τελικού προϊόντος και η σημασία του στην διατροφή του ανθρώπου, η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος των εκτρεφόμενων ειδών μέσω της διατροφής τους.

Τα εντατικά συστήματα υδατοκαλλιεργειών είναι υψίστης σημασίας για τη διατροφή τόσο των ανθρώπων όσο και των εκτρεφόμενων από τον άνθρωπο ζώων. Η παρασκευή ιχθυοτροφών στοχεύει στο να ικανοποιηθούν οι θρεπτικές απαιτήσεις των εκτρεφόμενων ψαριών αποδίδοντας το μέγιστο δυνατό ρυθμό ανάπτυξης τους συμβάλλοντας παράλληλα στην ενίσχυση της υγείας τους και τη διατήρηση της υψηλής θρεπτικής αξίας τους. Πρέπει να αποτελούν πρώτες ύλες, κατάλληλες για την ιδιομορφία πέψης του εκτρεφόμενου ψαριού μέσω της επεξεργασίας τους, τον περιορισμό της σπατάλης των θρεπτικών συστατικών και τροφές για τη βελτίωση της γεύσης, του χρώματος και της ποιότητας των ψαριών και των παραγόμενων προϊόντων. Παράλληλα πρέπει να συμβάλλουν στη διατήρηση ενός καθαρού υδάτινου περιβάλλοντος γύρω από την περιοχή της εκτροφής.

Για να επιτευχθούν τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα από τη διατροφή των υδρόβιων οργανισμών, δεν θα μπορούσε να παραβλεφθεί η επιστημονική σύνθεση των μιγμάτων τροφής καθώς επίσης και η κατάλληλη τεχνολογική επεξεργασία της. Η αυξανόμενη ζήτηση για τροφή υψηλής ποιότητας αποτελεί κοινή διαπίστωση για όλες τις περιόδους της ιστορίας των υδατοκαλλιεργειών. Καθώς οι εκτρεφόμενοι οργανισμοί υπό εντατικές συνθήκες εκμετάλλευσης ιχθυοπληθυσμού αυξάνουν, η βελτίωση της ποιότητας της τροφής τους γίνεται περισσότερο επιτακτική.

1.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι πρωτεΐνες αποτελούν το 65-75% του ολικού ξηρού βάρους των ψαριών, ο βιολογικός τους ρόλος είναι εξαιρετικά σημαντικός για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού των ιχθύων. Με την πέψη ή την υδρόλυση απελευθερώνουν αμινοξέα, τα οποία απορροφώνται από το πεπτικό σύστημα και μεταφέρονται μέσω του αίματος στα διάφορα όργανα και στους ιστούς. Τα αμινοξέα είναι τα δομικά συστατικά των πρωτεϊνών καθώς όμως οι οργανισμοί δε μπορούν να τα συνθέσουν πρέπει να τα προσλάβουν μέσω της τροφής. Επομένως τα αμινοξέα που εισέρχονται στο ψάρι, χρησιμοποιούνται είτε για τη σύνθεση νέων πρωτεϊνών, ιδιαίτερα σε περιόδους ανάπτυξης, αλλά και αναπαραγωγικής ωρίμανσης, ή για αντικατάσταση και συντήρηση των ήδη υπαρχόντων πρωτεϊνών (Βουλτσιάδου 2015). Είναι απαραίτητο να γίνεται συνεχώς πρόσληψη πρωτεϊνών από τους οργανισμούς καθώς είναι απαραίτητες στη σύνθεση νέων πρωτεϊνών για την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή καθώς και για συντήρηση των ήδη υπαρχόντων.

Η πρωτεΐνη είναι η πρώτη οριακή θρεπτική ουσία στις ελαχίστου κόστους δίαιτες λόγω του υψηλού κόστους της στην αγορά (Matthews, 2000). Το ποσοστό της διαιτητικής πρωτεΐνης, το οποίο αποδίδει τη μέγιστη ανάπτυξη του οργανισμού εξαρτάται από τους εξής παράγοντες, το ενεργειακό περιεχόμενο της τροφής, την ηλικία, βάρος, γονιμότητα (φυσιολογική κατάσταση του οργανισμού) τη θερμοκρασία νερού, την αλατότητα, το διαλυμένο O_2 (περιβαλλοντικούς παράγοντες), το ποσοστό και τη διαθεσιμότητα των απαραίτητων αμινοξέων και την πρόσληψη τροφής (Γιαννηκώτσιου, 2010). Ανεπαρκής ποσότητα πρωτεΐνης στο σιτηρέσιο έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της αύξησης και τη μείωση του σωματικού βάρους, με αποτέλεσμα να μην επιτελούνται οι λειτουργίες των πιο ζωτικών ιστών (Μεντέ, 2011)

Οι απαιτήσεις σε πρωτεΐνες ποικίλλουν στα διάφορα είδη ψαριών και μεταβάλλονται ανάλογα με την ηλικία των οργανισμών. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι απαιτήσεις των ιχθύων σε πρωτεΐνες μειώνονται με την αύξηση της ηλικίας. Συχνά όμως αυτές επηρεάζονται από ενδογενείς παράγοντες και εξωγενείς παράγοντες (θερμοκρασία, αλατότητα). Επίσης, περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η θερμοκρασία αλλά και η αλατότητα του νερού, επηρεάζουν τις απαιτήσεις του οργανισμού σε

πρωτεΐνες, ακόμη και εντός της ίδιας ηλικιακής κλάσης, ενώ σημαντικό ρόλο έχουν και αρκετοί ενδογενείς παράγοντες. Ο προσδιορισμός της ακριβούς ποσότητας πρωτεϊνών που απαιτείται στα σιτηρέσια των διαφορετικών ψαριών δεν είναι εύκολη διαδικασία. Στη φύση, τα σαρκοφάγα ψάρια καταναλώνουν τροφές με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη μέχρι 50% (Μεντέ, 2011).

Η ιδανική ποσότητα πρωτεΐνης στις ιχθυοτροφές είναι από 28% έως 50% επί της συνολικής τροφής και φαίνεται να επηρεάζεται από το μέγεθος και την ηλικιακή κλάση που ανήκει ο οργανισμός (El-Sayed and Teshima, 1992). Οι Shiau και Peng στην μελέτη που έκαναν για τα νεαρά άτομα με σωματικό βάρος μικρότερο των 5g, όρισαν το απαραίτητο ποσοστό 29 έως και 40% για μέγιστη ανάπτυξη.

1.1.1 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Ο τομέας των ιχθυοκαλλιιεργειών αναπτύσσεται, με υψηλούς ετήσιους ρυθμούς αύξησης τις τελευταίες δεκαετίες και με σημαντικές προοπτικές ανάπτυξης στο άμεσο μέλλον (Nogueira *et al.* 2012). Εκτιμάται ότι μέχρι το 2030, πάνω από το ήμισυ των ψαριών που καταναλώνονται, θα παράγονται από υδατοκαλλιέργειες. Η συνολική παραγωγή αυξήθηκε από 10 εκατ. τόνους ψαριών το 1984, σε 74 εκατ. τόνους το 2014 (FAO 2016).

Η μεγάλη ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιιεργειών συνοδεύτηκε από μια εξίσου μεγάλη αύξηση της ζήτησης για τεχνητές ιχθυοτροφές, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγωγή συγκεκριμένων ιχθυαποθεμάτων που προορίζονται για ιχθυάλευρα (Tidwell & Allan 2002). Τα ιχθυαποθέματα θεωρούνται μη ανανεώσιμες πηγές, έτσι πλέον οι παραγωγοί αρχίζουν να στρέφονται από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια προς χερσαίες φυτικές ή ζωικές πρώτες ύλες, με στόχο την επίτευξη της αειφορίας στις υδατοκαλλιέργειες.

Ταυτόχρονα όμως με τη χρήση των χερσαίων πρώτων υλών τίθενται και ηθικά ζητήματα. Οι τροφές αυτές είναι πολύ απομακρυσμένες από τη διατροφή που επιβάλλει η φύση του ψαριού.

Εξαιτίας αυτού συχνά έχουν μειωμένη διατροφική αξία και πεπτικότητα για τα ψάρια (Gatlin III et al., 2007), ενώ έχουν αναφερθεί και μεταβολές στη φυσιολογία του εντέρου τους, στο ανοσοποιητικό σύστημα, καθώς και παθολογία και άλλες αρνητικές επιδράσεις στην ευζωία τους (Pickova&Mørkøre, 2007; Bonaldo et al., 2008; Montero et al., 2008). Τα φυτικά άλευρα, συγκριτικά με τα ιχθυάλευρα, περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης και ορισμένων απαραίτητων αμινοξέων, αλλά και διάφορες μη διατροφικές ουσίες που, αν δεν αδρανοποιηθούν, μέσω της κατάλληλης επεξεργασίας τους, μπορεί να προκαλέσουν μείωση της ανάπτυξης, τοξικότητες και προβλήματα υγείας στους διατρεφόμενους ιχθύς (Francis et al., 2001, Guroy et al., 2013).

Για παράδειγμα μεταξύ των διαφόρων συστατικών, το αλεύρι σόγιας (SBM) ,ένα από τις πιο ενδιαφέρουσες εναλλακτικές πηγές ιχθυοτροφών λόγω των πλεονεκτημάτων της προσφοράς, της τιμής και της πρωτεΐνης και της σύνθεσης αμινοξέων (Bonaldo et al., 2008). Ωστόσο, το συστατικό αυτό μπορεί να προκαλέσει ποικίλες ιστολογικές και λειτουργικές μεταβολές στα γαστρεντερικά στρώματα των ψαριών, ιδιαίτερα στα σαλμονοειδή, συμπεριλαμβανομένων μορφολογικών αλλοιώσεων και φλεγμονών (Krogdahl et al., 2003, 2010). Επίσης είναι γνωστό ότι πρώτες ύλες που προέρχονται από φυτικές πηγές δεν είναι πλούσιες σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία είναι απαραίτητα για τους υδρόβιους οργανισμούς. Οι Glencross et al. τόνισαν ότι το προφίλ των λιπαρών οξέων του ψαριού αντανακλά τα διατροφικά του λιπαρά, και παρόλο που με τη χρήση τελικών σιτηρεσίων που περιέχουν ιχθυέλαια υπάρχει αποκατάσταση των πολυακορέστων λιπαρών, αυτή συχνά δεν είναι πλήρης. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις ότι υπάρχει αρνητική επίδραση της χρήσης των φυτικών πρωτεϊνών και στην οργανοληπτική ποιότητα του ψαριού (Gatlin III et al., 2007).

Συνεπώς οι αλλαγές στις πηγές των ιχθυοτροφών είναι ένα ζήτημα σχετικό με την ποιότητα και τη διατροφική αξία του τελικού προϊόντος. Με τη χρήση ιχθυάλευρων και ιχθυέλαιων τίθεται ένα ζήτημα μεταφοράς θρεπτικών (P, N), όχι απλά από ένα υδάτινο οικοσύστημα σε ένα άλλο, αλλά από ένα χερσαίο οικοσύστημα σε ένα υδάτινο. Από την άλλη, η εκτίμηση της περιβαλλοντικής επίδρασης συγκριτικά έδειξε ότι οι χερσαίες φυτικές πρώτες ύλες έχουν σημαντικό πλεονέκτημα στην οικονομία της

φύσης αναφορικά με την παραγωγή και τη χρήση τους στις υδατοκαλλιέργειες, έναντι των ιχθυάλευρων και ιχθυέλαιων (Boyd et al., 2007).

Επίσης η στροφή από τα ιχθυάλευρα και τα ιχθυέλαια στις φυτικές πρώτες ύλες συνεπάγεται μία κρίση στους παραγωγούς- ψαράδες των πρώτων υλών όσο και στη ευμάρεια των αγροτών ή εκτροφέων των εναλλακτικών πηγών. Οι δίαιτες όμως μπορεί να συμβάλλουν στην αυξημένη ανοχή στρες και την ανθεκτικότητα των ζώων στην ενσωμάτωση ορισμένων ζωοτροφών ή λειτουργικών συστατικών εκτός από τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά (Nakano 2007). Αυτά τα λειτουργικά τρόφιμα μπορούν να οριστούν ως τρόφιμα που έχουν στοχευμένες λειτουργίες στο σώμα που βελτιώνουν την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων ή τη μείωση της ευπάθειας (Parracho, Saulnier, McCartney&Gibson ,2008) και περιλαμβάνουν προβιοτικά, πρεβιοτικά και ανοσοδιεγερτικά.

Στις ιχθυοτροφές συχνά μελετάται η δυνατότητα αντικατάστασης πλήρως ή ενός ποσοστού του ιχθυαλεύρου με πηγές χερσαίων ζώων. Οι πηγές αυτές παρουσιάζουν πολύ υψηλή συγκέντρωση σε πρωτεΐνη. Πτηνάλευρο, αιματάλευρο, υδρολυμένο πτεράλευρο, κρεατάλευρο και οστεάλευρο φαίνεται να είναι ελλειπή σε ένα ή παραπάνω αμινοξέα (Πίνακας 1). Εάν στη διαίτα διατηρηθεί κατάλληλη αναλογία ανάμεσα στα παραπροϊόντα αυτά, τότε η ανισορροπία στα απαραίτητα αμινοξέα μπορεί να ισορροπήσει και η ποιότητα τέτοιων διαιτών πιθανώς να βελτιωθεί (El-Sayed, 1999).

Πίνακας 1: Είδη ιχθυαλεύρων ζωικής προέλευσης και απαραίτητα αμινοξέα που παρουσιάζουν έλλειψη

ΑΛΕΥΡΑ	ΕΛΛΕΙΨΗ ΣΕ ΑΑ
Αιματάλευρο	ισολευκίνη
Πτηνάλευρο, υδρολυμένο πτεράλευρο	λυσίνη
Οστεάλευρο, αιματάλευρο, υδρολυμένο πτεράλευρο	μεθειονίνη

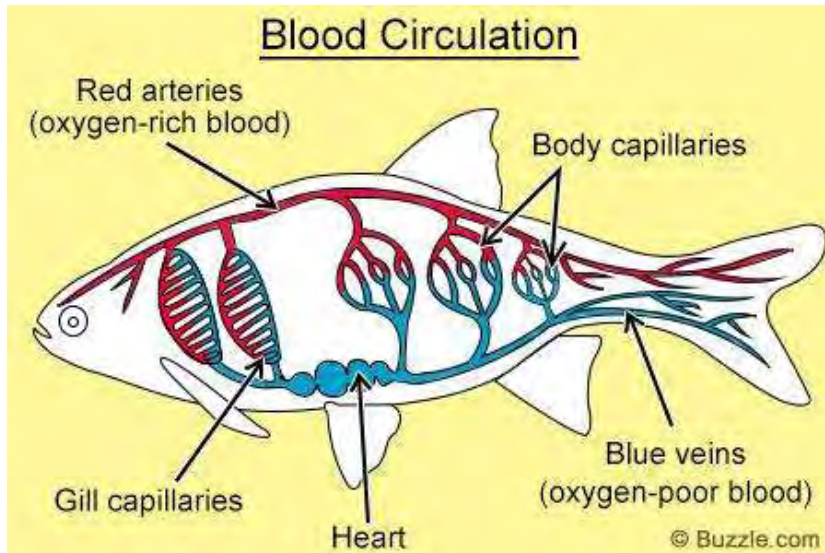
Οι πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης είναι πλούσιες σε πρωτεΐνη, λιπίδια, ανόργανα στοιχεία και βιταμίνες και χαμηλές σε ινώδεις ουσίες και υδατάνθρακες (Jauncey, 1998).

Για την παρασκευή των ζωικών αλεύρων δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν πρώτες ύλες από άρρωστα ή υποπευδόμενα, ως άρρωστα ζώα, υπολείμματα ζωικών τροφίμων για άνθρωπο, εντόσθια, κοπριές και απορριπτόμενα προϊόντα για ανθρώπινη κατανάλωση (El-Sayed, 1999)

Σημαντικό είναι όμως το γεγονός ότι τα άλευρα που προέρχονται από χερσαίους οργανισμούς πρέπει να χρησιμοποιούνται σε περιορισμένη ποσότητα καθώς έχουν αρκετά υψηλό κόστος. Επιπρόσθετα, οι δίαιτες με ιχθύες που τράφηκαν με εναλλακτικές πηγές λιπιδίων έδειξαν υψηλότερο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων και λευκοκυττάρων από ό,τι τα ψάρια που τράφηκαν με δίαιτα χωρίς λιπίδια. Οι εκθέσεις σχετικά με την επίδραση των απαραίτητων λιπαρών οξέων στην ανοσολογική απόκριση εξακολουθούν να είναι αντιφατικές (Lall 2000, Balfry&Higgs 2001).

Το κυκλοπροπενοϊκό οξύ είναι ένα από τα λιπαρά οξέα που έχει αρνητική επίδραση στην υγεία του ψαριού, μειώνει την ανάπτυξη στην ιριδίζουσα πέστροφα και δρα σαν συνεργός στην καρκινογένεση από τις αλφατοξίνες. Άλλες παθολογικές καταστάσεις που παρατηρήθηκαν στην πέστροφα αλλά και σε άλλα είδη είναι η αλλοιώσεις του ήπατος με αυξημένες αποθέσεις γλυκογόνου, και μειωμένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη καθώς και η μείωση της δραστηριότητας πολλών βασικών ενζύμων.

1.2ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



Εικόνα 1 Πηγή: Buzzle.com

Το κυκλοφορικό σύστημα αποτελείται, από τον υγρό αιματικό ιστό και από ένα αγγειακό σύστημα, μέσω του οποίου μεταφέρεται το αίμα. Το καρδιαγγειακό σύστημα αποτελείται από την καρδιά, τις αρτηρίες, που μεταφέρουν το αίμα από την καρδιά προς την περιφέρεια, τα τριχοειδή, που επιτρέπουν την ανταλλαγή ουσιών με τους ιστούς, και τις φλέβες, που επαναφέρουν το αίμα στην καρδιά. Η καρδιά στους τελεόστεους ιχθύες, βρίσκεται στην περικαρδιακή κοιλότητα, κοιλιακά και οπισθίως των βραγχίων.

Η καρδιά λειτουργεί ως αντλία, προωθεί το αίμα μέσω της κοιλιακής αορτής στα βράγχια όπου γίνεται η οξυγόνωση του και διανέμεται στο υπόλοιπο σώμα. Όσο οι αρτηρίες μεταφέρουν το οξυγονωμένο αίμα στο σώμα από τα βράγχια στην καρδιά, οι φλέβες επιστρέφουν το αποξυγονωμένο αίμα από τα διάφορα τμήματα του σώματος στη καρδιά. Οι αρτηρίες είναι μικρά, λεπτά αγγεία τα οποία καταλήγουν στα τριχοειδή αγγεία. Από τα τριχοειδή σχηματίζονται οι φλέβες οι οποίες ακολουθούν την ίδια σχεδόν διαδρομή με τις αρτηρίες. Με την κυκλοφορία του αίματος εξυπηρετούνται μια σειρά από σημαντικές λειτουργίες του οργανισμού. Με το πλάσμα μεταφέρονται θρεπτικά συστατικά από τον πεπτικό σωλήνα στους ιστούς. Η μεταφορά του οξυγόνου

και η χυμική και κυτταρική ανοσία, είναι ακόμα μερικές διεργασίες που επιτυγχάνονται με τη κυκλοφορία του αίματος.

1.2.1 ΑΙΜΑ

Αίμα χαρακτηρίζεται ο ρευστός συνδετικός ιστός που βρίσκεται στο κλειστό κυκλοφορικό σύστημα, ρέει μονόδρομα μέσα από στα αιμοφόρα αγγεία. Ο όγκος του αίματος αντιστοιχεί περίπου στο 3-4% του σωματικού τους βάρους, στους τελεόστεους ιχθύες στους ελασμοβράγχιους ιχθύες και τα άλλα σπονδυλωτά στο 5-8% (Ferguson, 2006). Το αίμα στους ιχθύες αποτελείται από τα αιμοκύτταρα και το πλάσμα. Το πλάσμα αποτελείται από 10% διαλυμένες οργανικές και ανόργανες ενώσεις και 90% νερό. Το νερό το οποίο αποτελεί τη βάση της σύστασης του βοηθάει στην μεταφορά των θρεπτικών στοιχείων ,πρωτεΐνες όπως σφαιρίνες, αλβουμίνες, ινωδογόνο και αντισώματα. Οι τύποι των κύτταρων που βρίσκονται στους τελεόστεους ιχθύες είναι τα ανώριμα ερυθροκύτταρα, τα ώριμα ερυθροκύτταρα, τα θρομβοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα και τα εωσινόφιλα, τα λεμφοκύτταρα, τα πλασμοκύτταρα και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα (Lopez-Ruizetal., 1992).

Όσο οι αρτηρίες μεταφέρουν το οξυγονωμένο αίμα στο σώμα από τα βράγχια στη καρδιά, οι φλέβες επιστρέφουν το αποξυγονωμένο αίμα από τα διάφορα τμήματα του σώματος στη καρδιά. Οι αρτηρίες είναι μικρά, λεπτά αγγεία που καταλήγουν στα τριχοειδή αγγεία. Από τα τριχοειδή σχηματίζονται οι φλέβες οι οποίες ακολουθούν την ίδια σχεδόν διαδρομή με τις αρτηρίες.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ο βασικός μηχανισμός που διαθέτουν τα σπονδυλωτά για τη μεταφορά του O₂ στους ιστούς. Περιέχουν μια πρωτεΐνη που περιέχει σίδηρο και διακρίνονται σε ώριμα και ανώριμα. Τα ώριμα φέρουν έναν ωοειδή κεντρικό πυρήνα, που ο χρωματισμός του είναι έντονο κόκκινο, αποτελούν ατρακτοειδή κύτταρα και το κυτταρόπλασμα τους χρωματίζεται χρώση Giemsa αποκτά ένα γαλαζιο-γκρί χρώμα. Σε αίμα τσιπούρας έχουν εντοπιστεί και άωρης μορφής κύτταρα, με οβάλ σχήμα (οξεόφιλοιερυθροβλάστες), έχουν μεγάλο πυρήνα με κόκκινη χρωματίνη με τη μορφή συσπειρώσεων και περιβάλλεται από κυτταρόπλασμα, το οποίο

χρωματίζεται γαλάζιο με χρώση Giemsa. Ο όγκος και το περιεχόμενο των ερυθρών αιμοσφαιρίων εκτιμούνται κυρίως με τους ερυθροκυτταρικούς δείκτες MCV, MCVC. Ο συνολικός αριθμός των αιμοσφαιρίων και η μέτρηση της ποσότητας της αιμοσφαιρίνης αποτελεί την ποσοτική ανάλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

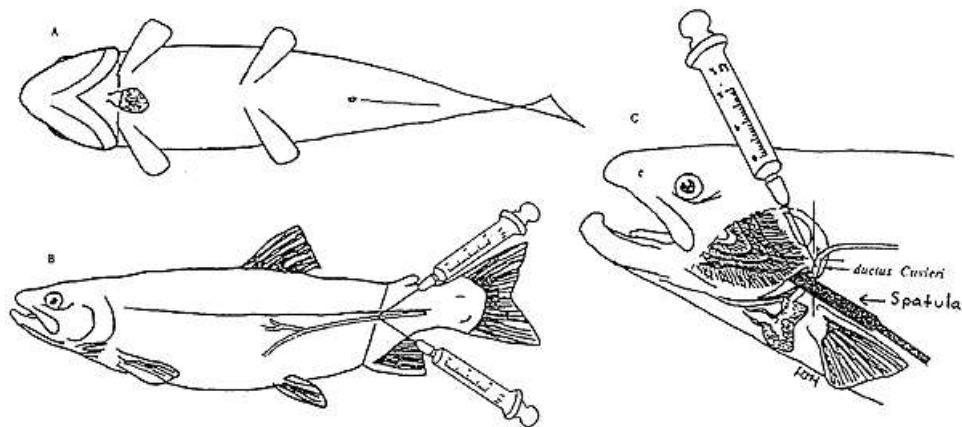
1.2.2 ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Αιματολογικές εξετάσεις στο χώρο των υδατοκαλλιέργειών γίνονται κυρίως για να διερευνηθεί η αιτία ασθενειών που προσβάλλουν τους ιχθύες. Η εξέταση του αίματος χρησιμοποιείται συχνά για την παρακολούθηση και την αξιολόγηση της υγείας και της διατροφικής αξίας των ιχθύων (GUPTA et al., 2007). Η λήψη αίματος στα ψάρια μπορεί να επιτευχθεί με δύο τρόπους είτε μέσω της ουριαίας φλέβας είτε απευθείας από την καρδιά. Η λήψη αίματος από τη καρδιά φαίνεται ότι είναι αρκετά πιο επικίνδυνη για τον οργανισμό για αυτό και συνήθως αποφεύγεται σε ψάρια, όπως γεννήτορες, όπου μας ενδιαφέρει η επιβίωση τους. Η καρδιά βρίσκεται στην περικαρδιακή κοιλότητα, οπισθίως των βράγχιων. Είναι δίχωρη, περιλαμβάνει και τον φλεβώδη κόλπο και τον αρτηριακό κώνο (Fox, 2000).

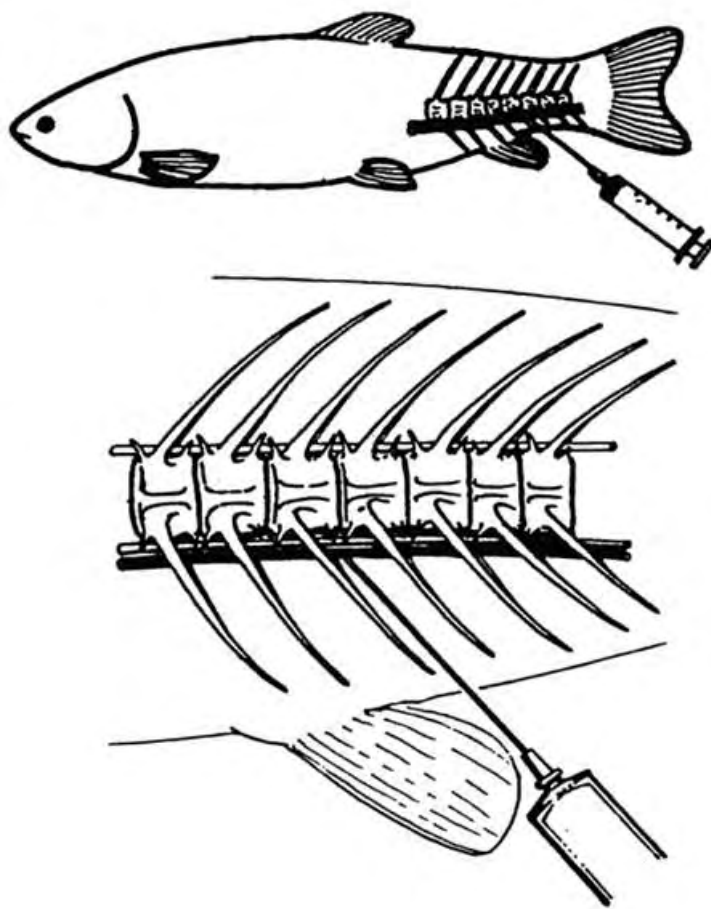
Στα ενήλικα ψάρια, η σύριγγα εισέρχεται με γωνία 20° με 25° προς την κοιλιακή μέση γραμμή του ψαριού στο ύψος του πρόσθιου άκρου των θωρακικών πτερυγίων και προωθείται κρανιακά ώσπου να διαπεράσει την περικαρδιακή κοιλότητα. Στα μικρά ψάρια δεν μπορεί να γίνει χρήση βελόνας, η οποία αντικαθίσταται από τριχοειδή σωλήνα ο οποίος εισχωρεί με γωνία 60° στο ψάρι 1-2mm προσθίως από το σημείο τομής της κοιλιακής μέσης γραμμής με τη γραμμή που ενώνει τα πρόσθια άκρα των θωρακικών πτερυγίων (Svobodova and Vykusova, 1991).

Η λήψη αίματος από την ουραία φλέβα προσεγγίζεται είτε πλευρικά είτε κοιλιακά. Για τους ιχθύες μεγαλύτερους των 200g στην πρώτη περίπτωση η σύριγγα εισέρχεται στο σώμα του ζώου με γωνία 45° κάτω από την πλευρική γραμμή. Έπειτα εισέρχεται μέσω των μυών, προωθείται προς τη ράχη μέχρι να συναντήσει την σπονδυλική στήλη όπου η βελόνα κινείται κοιλιακά προς τη ουραία φλέβα. Όταν η σύριγγα συναντήσει την σπονδυλική στήλη ξεκινά η αναρρόφηση του αίματος. Η αναρρόφηση πρέπει να γίνεται με αργούς ρυθμούς για την αποφυγή ρήξης αγγείων, καθώς τα ψάρια έχουν χαμηλή πίεση αίματος.

Στην περίπτωση της κοιλιακής προσέγγισης η βελόνα εισέρχεται κάθετα στο σώμα του ιχθύ και ένα εκατοστό πίσω από το εδρικό πτερύγιο. Το δείγμα μεταφέρεται άμεσα είτε σε σωλήνα διαχωρισμού ορού ή σε σωλήναριο επικαλυμμένο με ηπαρίνη. Οι σωλήνες ηπαρίνης χρησιμοποιούνται για να διαχωρίσουν το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα. Τα υποδείγματα σταθερότητας για είδη ψαριών είναι συγκρίσιμα με εκείνα άλλων σπονδυλωτών. Η χρήση αποστειρωμένων συριγγών είναι ένα απαραίτητο μέτρο προφύλαξης λόγω του ότι αν το αίμα έρθει σε επαφή με γυαλί οδηγείται σε μειωμένους χρόνους πήξης (Smith, Lewis & Kaplan, 1952) .



Εικόνα 2. Αιμοληψία α) από την καρδια, β) από τη ουραια φλέβα γ) τα βράγχια .Πηγή: Australian department of Agriculture and Water Resources



Εικόνα 3, Αιμοληψία από την ουριαία φλεβα. Πηγη: fao.org

1.3 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η εύρεση και αξιοποίηση εναλλακτικών πρωτεϊνικών πηγών και ελαίων για πιθανή υποκατάσταση ή και αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου και του ιχθυελαίου κρίνεται απαραίτητη για την διατήρηση και την ανάπτυξη του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών.

Σκοπός της εργασίας ήταν η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με πετράλευρο και η παρατήρηση και ανάλυση των βιοχημικών και αιματολογικών παραμέτρων των ιχθύων. Σημαντική κρίνεται και η διεύρυνση των επιπέδων αντικατάστασης του ιχθυαλεύρου για την ευζωία των οργανισμών.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΓΕΝΙΚΑ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις πειραματικές εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι οργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν ανήκαν στο είδος *Sparusaurata* και είχαν μέσο βάρος 200gr . Τις πρώτες επτά ημέρες οι ιχθύες αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στα ενυδρεία των εγκαταστάσεων του πανεπιστημίου όπου και ταΐζονταν με τροφή του εμπορίου. Για την έρευνα χρησιμοποιήθηκαν δυο διαφορετικές τροφές, η εμπορική τροφή που χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας, και μια με βασικό συστατικό το πτεράλευρο.

Οι ιχθύες πριν την έναρξη του πειράματος, αφού πρώτα αναισθητοποιήθηκαν σε φαινοξυαιθανόλη, ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν στα ενυδρεία. Η ομάδα «ιχθυάλευρο» διατράφηκε με την FM τροφή και η ομάδα «πτεράλευρο» που διατράφηκε με την HFM50 τροφή. Οι δύο ομάδες τρέφονταν δύο φορές τη ημέρα με ποσοστό 1% του συνολικού σωματικού τους βάρους. Συνολικά η πειραματική διαδικασία διήρκεσε 6 βδομάδες .

Στην παρούσα έρευνα οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν μετά το πέρας των 42 ημερών, τα ψάρια απομονώθηκαν με απόχη και τοποθετήθηκαν σε νερό με αναισθητικό. Το ιδανικό αναισθητικό για ψάρια ιχθυοκαλλιιεργειών πρέπει να εξασφαλίζει γρήγορη εγκατάσταση και ανάνηψη από την αναισθησία, για το λόγο αυτό επιλέχθηκε η φαινοξυαιθανόλη.

Στο πείραμα λήφθηκε αίμα από πέντε ψάρια που ταΐστηκαν με την τροφή που περιείχε ιχθυάλευρο (FM) και πέντε από την τροφή που είχε γίνει αντικατάσταση με το πτηνάλευρο (HFM50). Η αιμοληψία έγινε από την ουραία φλέβα με τη χρήση σύριγγας 2,5ml και βελόνας 23G. Η σύριγγα εισήχθηκε στο σώμα των οργανισμών από τη βάση του ουριαίου μίσχου με γωνία 45°. Το αίμα που προσλήφθηκε μέσω της βελόνας τοποθετήθηκε άμεσα σε ειδικά σωληνάκια επιστρωμένα με αντιπηκτική ουσία EDTA, προκειμένου να αποφευχθεί η πήξη του.

2.1.1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε χρήση της ANOVA, όπου οι μέσες τιμές των διαφορετικών διατροφικών ομάδων συγκρίθηκαν με την ανάλυση διακύμανσης. Οι διαφορές θεωρήθηκαν σημαντικές σε $p < 0,05$.

Όλα τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση \pm τυπική απόκλιση (S.D.).

2.2 ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Τα χρωματόμετρα (colorimeter) χρησιμοποιούνται στα κλινικά εργαστήρια μέχρι και την δεκαετία του 1940, οι συσκευές αυτές βοήθησαν στο να εκτελούνται οι βιοχημικές εξετάσεις που σήμερα μπορούν να γίνουν σε αυτόματους βιοχημικούς αναλυτές ή και σε φωτόμετρα. Οι χρωματομετρικές αναλύσεις, βοηθούν στο χρωματισμό της άγνωστης ουσίας που ερευνάται στο προσδιορισμό της συγκέντρωσής της.

2.2.1 ΓΛΥΚΟΖΗ

Από την τροφή, το μόνο θρεπτικό συστατικό που χρησιμοποιείται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες από τα εγκεφαλικά κύτταρα και το κεντρικό νευρικό σύστημα είναι η γλυκόζη. Είναι απλός μονοσακχαρίτης που απορροφάται άμεσα στην κυκλοφορία του αίματος κατά τη διάρκεια της πέψης. Τα κύτταρα την χρησιμοποιούν ως πρωταρχική πηγή ενέργειας και ως μέσο μεταβολισμού. Ο προσδιορισμός της γλυκόζης στο πλάσμα του αίματος των δειγμάτων έγινε με το εμπορικό κίτ της εταιρείας BIOSIS. Ακολούθησε φωτομέτρηση του δείγματος σε μήκος κύματος 510nm. Όπου ισχύει ότι η αύξηση της απορρόφησης στα 510nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα.

Η γλυκόζη οξειδώνεται στην παρουσία του ενζύμου γλυκόζο-οξειδάση (GOD) και παράγει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η αντίδρασή του με φαινολικό

παράγωγο και 4αμυνοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγεται προϊόν με χρώμα ερυθρό.

Σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος (R1) μεταφέρθηκε ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων (R1a). Η θερμοκρασία των αντιδραστηρίων για την σωστή χρήση του κιτ όπως αναγράφεται είναι 2 έως 10°C. Όπου οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν για το υπολογισμό της Γλυκόζης στα δείγματα ήταν:

$$\text{Γλυκόζη (mg/dl)} = \text{AΔ/AS} \times 100$$

$$\text{Γλυκόζη (mmoles/l)} = \text{AΔ/AS} \times 5.55$$

2.2.2 ΧΟΛΥΣΤΕΡΟΛΗ

Χοληστερόλη ονομάζεται μια κηρώδης στερόλη που βρίσκεται και συμβάλλει στη δημιουργία στη μεμβράνη των κυττάρων όλων των ιστών και στο πλάσμα του αίματος των ζώων. Προστατεύει τους νευρώνες του εγκεφάλου και βοηθά στη ανάπτυξη των νευρικών συνδέσμων του εγκεφάλου. Αποτελεί συχνά βασικό στοιχείο για τη παραγωγή των ορμονών και της προβιταμίνης D.

Ο προσδιορισμός της χοληστερόλης στο πλάσμα του αίματος των δειγμάτων έγινε με το εμπορικό κιτ της εταιρείας BIOSIS. Έπειτα έγινε φωτομέτρηση του δείγματος σε μήκος κύματος 510nm. Όπου ισχύει πάλι ότι η αύξηση της απορρόφησης στα 510nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο δείγμα.

Η παρουσία του ενζύμου χοληστερολο-εστεράση (CE) οι εστέρες της χοληστερόλης υδρολύονται προς χοληστερόλη (CH) και η ολική CH μαζί με τη χοληστερολο-οξειδάση (CO) οξειδώνεται και γίνεται παραγωγή H₂O₂. Η αντίδρασή του με φαινολικό παράγωγο και αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Για την παραγωγή των αντιδραστήρων διαλύθηκε ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμου (R1a) σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος (R1). Η θερμοκρασία των αντιδραστηρίων για τον υπολογισμό της χολυστερόλης είναι 2 έως 10°C.

Οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν για το υπολογισμό της Γλυκόζης στα δείγματα ήταν:

$$\text{Χοληστερόλη (mg/dl)} = \text{A}\Delta/\text{A}\Sigma \times 200$$

$$\text{Χοληστερόλη (mmoles/l)} = \text{A}\Delta/\text{A}\Sigma \times 5.17$$

2.2.3 ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ

Οι εστέρες της γλυκερόλης (γλυκερίνης) μαζί με λιπαρά οξέα είναι τα τριγλυκερίδια. Τα τριγλυκερίδια αποτελούν μορφή λιπιδίων που χρησιμεύει για την μεταφορά των λιπαρών οξέων στο αίμα από το ήπαρ, στους περιφερειακούς ιστούς και χρησιμοποιούνται επίσης για την παραγωγή και της αποθήκευση ενέργειας.

Ο προσδιορισμός των τριγλυκεριδίων πλάσμα του αίματος των ιχθύων στη παρούσα εργασία έγινε με το εμπορικό kit της εταιρείας BIOSIS. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φωτομέτρηση του δείγματος σε μήκος κύματος 510nm.

Η παρουσία του ενζύμου λιποπρωτεΐνο-λιπάση καταλύει την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων και η παραγόμενη από την αντίδραση γλυκερόλη με την βοήθεια του ενζύμου γλυκερόλοκινάση (GK) φωσφορυλιώνεται. Η 3-φωσφορική οξειδάση (GPO) οξειδώνεται με ταυτόχρονη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2). Το H_2O_2 αντιδρά και δημιουργεί φαινολικό παράγωγο και αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος.

Παρασκευάστηκαν τα διαλύματα για την μελέτη των τριγλυκεριδίων. Σε συσκευασία 8 x 50 ml 50 ml ρυθμιστικού διαλύματος (R1) στο κενό φιαλίδιο εργασίας (R5) και διαλύθηκε σε αυτό ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων (R1a).

Οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν για το υπολογισμό των τριγλυκεριδίων στα δείγματα ήταν:

$$\text{Τριγλυκερίδια (mg/dl)} = \text{A}\Delta/\text{A}\Sigma \times 200$$

$$\text{Τριγλυκερίδια (mmoles/l)} = \text{A}\Delta/\text{A}\Sigma \times 2.29$$

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Table 5. Αιματολογικές παράμετροι στα *S. aurata* που ταΐστηκαν με FM και HFM50

	FM	HFM50
<u>Αιματολογικές Παράμετροι</u>		
Glucose (mg dL ⁻¹)	51.21 ± 4.73	42.75 ± 3.71
Cholesterol (mgdL ⁻¹)	101.91 ± 10.88	77.32 ± 7.69
Triglycerides (mg L ⁻¹)	123.59 ± 13.14	101.52 ± 4.48

Πίνακας 2: Δεδομένα που παρουσιάζονται ± τυπική απόκλιση. Οι τιμές που δε έχουν κοινό εκθέτη είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετικές ($P < 0.05$).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στο πίνακα 1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της έρευνας όπου παρατηρείται ότι τα ψάρια που ταϊστήκαν με την τροφή που είχε γίνει αντικατάσταση ενός ποσοστού ιχθυαλεύρου από πετράλευρο (HFM50) υπήρξε μείωση των όλων αιματολογικών παραμέτρων. Τα επίπεδα του πλάσματος της χοληστερόλης, της γλυκόζης και των τριγλυκεριδίων μειώθηκαν μετά την αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου από πηγές πρωτεϊνών από πετρά πουλιών. Η αντικατάσταση της πρωτεΐνης ψαριών με πηγή πρωτεΐνης πουλερικών μείωσε τη χοληστερόλη πλάσματος σε σύγκριση με τα ψάρια που τράφηκαν με τη εμπορική δίαιτα , αλλά όχι σημαντικά. Ο οργανισμός αποθηκεύει το λίπος υπό μορφή τριγλυκεριδίων (Esteban et al 2015) οι χαμηλές τιμές συναντώνται στον υποσιτισμό, τη δίαιτα που είναι χαμηλή σε λιπαρά και σε προβλήματα απορρόφησης των λιπών, συνεπώς φαίνεται ότι η αντικατάσταση 50% του ιχθυαλεύρου με πετράλευρο, δεν είναι κατάλληλη.

Η μέτρηση της γλυκόζης, της χοληστερόλης αλλά και άλλων παραμέτρων του αίματος, έχει συχνά χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της υγείας και της βιολογικής κατάστασης των ψαριών (Adams et al, 1996) , η οποία μπορεί να επηρεάζεται από την δίαιτα, τις συνθήκες που βρίσκονται (θερμοκρασία νερού, αλατότητα κλπ) ή και την μεταχείριση που υποβλήθηκαν (αλλαγή κλωβών). Οι Nengas et al. και οι Shapawi et al. παρατήρησαν στις έρευνες που έκαναν στα είδη και *Cromileptes altivelis* ότι η αντικατάσταση του ιχθυαλεύρου με πετράλευρο φαίνεται να προκαλεί μείωση στα επίπεδα της χοληστερόλης των ψαριών.

Το ίδιο παρατήρησαν και οι Yigit et al. στο καλκάνι (*Scophthalmus maximus*) όπου και πάλι τα επίπεδα της χοληστερόλης ήταν χαμηλότερα από τα ψάρια που τράφηκαν με τον μάρτυρα.

Αρκετοί παράγοντες διατροφής, συμπεριλαμβανομένων των απαραίτητων και μη θρεπτικών συστατικών, έχουν επίσης αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν συγκεκριμένη επίδραση στην ανοσολογική απόκριση όταν παρέχονται σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (Trichet 2010). Τα ψάρια, όπως όλα τα μονογαστρικά ζώα, δεν έχουν ειδικές πρωτεϊνικές απαιτήσεις, αλλά απαιτήσεις σε αμινοξέα (ΑΑ) που συνθέτουν τις πρωτεΐνες (Wilson 2002). Είναι σημαντικό πριν εξεταστούν τα πιθανά οφέλη της συμπλήρωσης της διατροφής με κάποιο θρεπτικό συστατικό να εξασφαλιστεί ότι οι ιχθύες τρέφονται με επαρκείς ποσότητες τροφής, η οποία ικανοποιεί όλες τις θρεπτικές απαιτήσεις για το στάδιο της ανάπτυξης του υπό εξέταση είδους.

Παθολογικά προβλήματα μπορεί να προκύψουν από την κατανάλωση τροφών, όπου το είδος της πηγής της πρωτεΐνης που δίνεται στους οργανισμούς μπορεί να προκαλέσει τοξικότητα.

Το υδρολυμένοφτεράλευρο παρασκευάζεται από την υδρόλυση της πρωτεΐνης των φτερών των πουλερικών, υπό πίεση με την παρουσία Ca(OH)_2 και ξήρανση. Έχει περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες 80-85% αλλά η πεπτικότητά του από τα ψάρια είναι χαμηλή (50-70%), ενώ και το προφίλ των απαραίτητων αμινοξέων παρουσιάζει σημαντικές ελλείψεις για την ιδανική διατροφή των ψαριών. Το άλευρο υποπροϊόντων πουλερικών παρασκευάζεται από υπολείμματα επεξεργασίας των πουλερικών, και δεν συμπεριλαμβάνει φτερά ή περιεχόμενα του στομάχου και των εντέρων. Η περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες είναι περίπου 58% πρωτεΐνες και 13% λιπίδια.

Η λευκίνη και άλλα απαραίτητα αμινοξέα, όταν βρίσκονται σε υψηλότερες από τις απαραίτητες συγκεντρώσεις στη τροφή μπορεί να προκαλέσει στους εκτρεφόμενους οργανισμούς προβλήματα όπως δυσμορφίες. Μια πιθανή παθολογική ακόμα κατάσταση που σχετίζεται με τη χρήση μη συμβατών πρώτων υλών για την παραγωγή της τροφής είναι η έλλειψη των απαραίτητων ιχνοστοιχείων. Μειωμένη ανάπτυξη, ανορεξία, κακή μετατρεψιμότητα, σκελετικές δυσμορφίες, αναιμία ακόμα και προβλήματα στην όραση είναι κάποια από τα κύρια συμπτώματα που έχουν αναφερθεί.

Η ανάλυση των αιματολογικών παραγόντων είναι μια αξιόπιστη πηγή συμπερασμάτων τόσο σε περιπτώσεις αντικατάστασης της τροφής όσο και στις συνθήκες των υδρόβιων οργανισμών, για αυτό είναι σημαντική η δημιουργία βάσεων

δεδομένων για οικονομικά σημαντικά είδη. Οι Thrall et al (2007), έκριναν έπειτα από μελέτη ότι η δημιουργία αυτών των βάσεων της αιματολογικής κατάστασης με βάση τα δεδομένα που λαμβάνονται από υγιή ζώα είναι θεμελιώδους σημασίας για το χαρακτηρισμό ενός φυσιολογικού εύρους διακύμανσης .

Οι Steffens et al σε έρευνά τους συμπέραναν ότι το άλευρο των παραπροϊόντων πουλερικών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως πηγή μόνης ζωικής πρωτεΐνης στη διατροφή των σαλμονιδών, υπό τον όρο ότι θα γίνει προσθήκη των αμινοξέων που είναι σε έλλειψη.

Τα φτερά πουλερικών έχουν χρησιμοποιηθεί ως πηγή για την ανάπτυξη δημιουργία μιας πληθώρας βιολογικών προϊόντων σε εργαστηριακό επίπεδο και ορισμένα από τα προϊόντα με βάση το φτερό έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε εμπορικές εφαρμογές.

Ωστόσο, απαιτείται σημαντική προσπάθεια έρευνας και ανάπτυξης για τη διευκόλυνση της χρήσης παραγώγων με βάση το φτερό. Οι δυσκολίες στην επεξεργασία των φτερών, ιδίως λόγω της διάλυσης, κυρίως λόγω του υψηλού επιπέδου διασύνδεσης, είναι ο κύριος περιορισμός. Παρ 'όλα αυτά, τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει ανάπτυξη στην επεξεργασία και στην ευκολία της χρήση των φτερών σε διάφορες πτυχές της παραγωγής (πχ. Ζωοτροφές)

Είναι φανερό ότι δεν υπάρχει πολύ μεγάλη βιβλιογραφία για την αντικατάσταση από χερσαίες πρώτες ύλες των ιχθυαλεύρων, ίσως αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι από το 2001 έως το 2013 είχε απαγορευθεί στα κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) η χρήση αλεύρων από παραπροϊόντα της ζωικής παραγωγής.

Η απαγόρευση αυτή οφείλονταν στις έντονες ανησυχίες της επιστημονικής κοινότητας αλλά και της κοινής γνώμης μετά την εμφάνιση της νόσου της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας στα βοοειδή, που διατρέφονταν με άλευρα αυτού του τύπου. Στις Μεταποιημένες Ζωικές Πρωτεΐνες (ΜΖΠ) οι οποίες αυστηρά πλέον προέρχονται από μονογαστρικά εκτρεφόμενα ζώα (χοιρινά, πουλερικά) και όχι μηρυκαστικά (όπως π.χ. βοοειδή) από τον Ιούνιο του 2013 επιτράπηκε ξανά η χρήση τους στις χώρες της ΕΕ με όμως τη θέσπιση πολύ αυστηρών κριτηρίων για το τρόπο παρασκευής τους .

Οι Leme et al. συμπέραναν ότι τα φτερά των πουλερικών αποτελούνται περίπου από 80-90% κερατίνη, μια πρωτεΐνη η οποία είναι δύσπεπτη, η οποία ωστόσο μπορεί να γίνει σχετικά πέψιμη από τους οργανισμούς όταν επεξεργαστεί υπό πίεση και θερμαινόμενο ατμό (υδρόλυση).

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα του πειράματος είναι παρόμοια με των ήδη υπάρχουσών ερευνών, τα ελάχιστα χαμηλότερα ποσοστά χοληστερόλης, γλυκόζης και γλυκεριδίων δείχνουν ότι η αντικατάσταση ενός ποσοστού των ιχθυαλεύρων ίσως είναι εφικτή αλλά όχι σε τιμή ίση ή μεγαλύτερη του 50%.

Η ανάγκη περισσότερων ερευνών για εναλλακτικές πηγές πρωτεΐνης είτε ζωικής είτε φυτικής προέλευσης με στόχο την αειφορία του κλάδου των υδατοκαλλιεργειών και την οικονομική του ανάπτυξη είναι επιτακτική.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

4.1 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βουλτσιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ., Αντωνοπούλου, Ε., Γκάνιας, Κ., Γκέλης, Σ.,

Στάικου, Α., Τριανταφυλλίδης, Α., (2015). Υδατοκαλλιέργειες.

Γιαννηκότσιου Ν, (2010). Οι απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά της τιλάπιας του

Νείλου (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). Προπτυχιακή Διατριβή.

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστήμων, Τμήμα Γεωπονίας

Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Καράβελα Θ. (2016) Η χρησιμοποίηση των ιχθυαλεύρων και ιχθυελαίων στις

ιχθυοτροφές των εκτρεφόμενων ειδών ιχθύων. Εξέυρεση εναλλακτικών

συστατικών για την υποκατάσταση/αντικατάσταση αυτών. Προπτυχιακή

Διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστήμων, Τμήμα

Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Καραπαναγιωτίδης Ι. (2015), Τεχνολογία Ιχθυοτροφών. Τμήμα Γεωπονίας

Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Βόλος

Μεντέ Ε., Νέγκας Ι. (2011), Στοιχεία Φυσιολογίας Θρέψεως και Εφαρμοσμένη

Διατροφή Ιχθύων και Καρκινοειδών

Παπουτσόγλου Σ. (2008), Διατροφή Ιχθύων, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα

4.2 ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ

- Aliva- Teles** (2012) Nutrition and health of aquaculture fish. Journal of fish diseases.35,83-108
- Amezcuam.**, Parsons C., Noll S. (2004). Content and Relative Bioavailability of Phosphorus in Distillers Dried Grains with Solubles in Chicks, Poultry Science, 83(6):971–976
- Ashley P.J.** (2007) Fish welfare: current issues in aquaculture. Applied Animal Behaviour Science 104, 199–235.
- Balcazar J.L., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Cunningham D., Vendrell D. & Muzquiz J.L.** (2006a) The role of probiotics in aquaculture. Veterinary Microbiology 114, 173–186.
- Balcazar J.L., Decamp O., Vendrell D., De Blas I. & Ruiz-Zarzuela I.** (2006b) Health and nutritional properties of probiotics in fish and shellfish. Microbial Ecology in Health and Disease 18, 65–7
- Barnes M.**, Brown M., Rosentrater K. (2012). Juvenile rainbow trout responses to diets containing distillers dried grain with solubles, phytase, and amino acid supplements, Open Journal of Animal Sciences, 2(2): 69-77
- Batal A. & Dale N.** (2006). True Metabolizable Energy and Amino Acid Digestibility of Distillers Dried Grains with Solubles, The Journal of Applied Poultry Research, 15: 89–93
- Bathena S.J** (2000), Relationship between fatty acids and the endocrine system, Bio Factors 13 (1-4):35-39
- Blair, R.**, 2008. Nutrition and feeding of organic poultry. Cabi Series, CABI, Wallingford, UK
- Bondari K. & Sheppard D.C.** (1987) Soldier fly *Hermetia illucens* L., as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). Aquaculture and Fisheries Management, 18:209 - 220.

- Cuillaume, J., Kaushik S., Bergot R. and Metailler R.** (2001), Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans. Springer Verlag. P. 404-405
- Diener S., Zurbrugg C., Tockner K.** (2009) Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. Waste Manage. Res. 27, 603–610
- Dong Y.P., Wu Q.Y.** (2010) Research status of development and utilization for silkworm chrysalis protein. Acad. Period. Farm Prod. Process. 211,17–20.
- Fowler, L. G.,** 1991. Poultry by-product meal as a dietary protein sources in fall chinook salmon. Aquaculture, 99:309–321.
- Gallagher, M. L. and Degani, G.,** 1988. Poultry meal and poultry oil as sources of protein and lipid in the diet of European eels *Anguilla anguilla*. Aquaculture, 73:177–187.
- Gardner GR and Yevich PP** (1969) Studies on the blood morphology of three estuarine cyprinodontiform fishes. J Fish Res Board Can, 26: 433-447.
- Gatlin D.M. & Li P.** (2007) Nucleotides. In: Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish (ed. by H.Nakagawa, M. Sato & D.M. Gatlin), pp. 193–209. CABInternational, Oxon, UK.
- Gatlin D.M.** (2002) Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition, 3rd edn (ed. by J.E. Halver & R.W. Hardy), pp. 671–702. Academic Press, San Diego, CA
- Gaylord, T. G. and Rawles, s.d.,** 2005. The modification of poultry by – product meal for use in hybrid striped bass *Morone chrysops* × *M. saxatilis* diets. J. World Aquacult.
- Gouveia L.,** Microalgae as a feedstock for biofuels. Springer, 2011.
- Hasan, M.R.** (2001), Nutrition and Feeding for Sustainable Aquaculture Development in the Third Millennium. Pp 193-219

- Hassan, M.R., Haq, M.S., Das, P.M. & Mowlah, G. (1997)** Evaluation of poultry feather meal as a dietary protein source for Indian major carp, *Labeorohita fry*. *Aquaculture*, 151, 47–54.
- Hernandez, C., Olvera-Novoa, M.A., Hardy, R.W., Hermosillo, A., Reyes, C. & Gonzalez, B. (2010)** Complete replacement of fish meal by porcine and poultry by-product meals in practical diets for fingerling Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: digestibility and growth performance. *Aquacult. Nutr.*, 16, 44–53.
- Hyder SL, Cayer ML and Pettet CL (1983)** Cell types in peripheral blood of the nurse shark: an approach to structure and function. *Tissue Cell*, 15: 437-455.
- Ibarra-Castro, L. & Alvarez-Lajonchere, L. (2011)** GnRHa induced multiple spawns and voluntary spawning of captive spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) at Mazatlan, Mexico. *J. World Aquacult. Soc.*, 42, 564–574.
- Ismail, S., Salleh, M. & Ramezani, E. (2013).** Performance of commercial poultry offal meal as fishmeal replacement in the diet of juvenile Malaysian mahseer, *Tor tramboides*. *J. Anim. Vet. Advan.*, 8, 284–29
- Montero D., Tort L., Izquierdo M.S., Robaina L. & Vergara J.M. (1998)** Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiology & Biochemistry* 18, 399–407.
- Reddy N., Yang Y.** biofibers from agricultural byproducts for industrial applications *Trends Biotech.*, 23 (1) (2005), pp. 22-27
- Rigos G., Samartzis A. (2010)** Effects of additive iron on growth, tissue distribution, haematology and immunology of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, *Aquacult Int* 18:1093–1104
- Regost C.J., Arzel J., Kaushik S.J., 1999. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 180, 99 – 117

- Schrooyen, P.** Dijkstra, R. Oberthu, A. Bantjes, J. Feijen Partially carboxymethylated feather keratins. 1. Properties in aqueous systems J. Agric. Food Chem., 49 (2001), pp. 221-230
- Shahidi, F.** (2005) Chitin, Chitosan, and Co-products: Chemistry, Production, ♣ Applications, and Health effects, Advances in food and nutrition research, vol 49.
- Sheppard C.,** Newton G.L., Thompson S.A., Savage S. (1994) A value added ♣ manure management system using the black soldier fly. Bioresour. Technol. 50, 275–279.
- Silva-Carrillo, Y.,** Hernandez, C., Hardy, W.R., GonzalezRodriguez, B. & Castillo-Vargasmachuca, S. (2012) The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Aquaculture, 364, 180–185.
- Steffens, W.** (1994) Replacing fish meal with poultry by-product meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 124, 27–34
- Trichet V.V.** (2010) Nutrition and immunity: an update. Aquaculture Research 41, 356–372.
- Vazquez-Ortiz F.A.,** Caire, G., Higuera-Ciapara, I. & Hernandez, G. (1995) High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. J. Liq. Chromatogr., 18, 2059–2068.
- Vincke M.** (1969) Compte-Rendu d'activite Annee 1969. Division d Recherches Piscicoles, Tananarive. Wang, Y., Guo, J., Li, K. & Bureau, D.P. (2006) Replacement of fish meal with rendered animal ingredients in feeds for cuneate drum, *Nibeamiichthioides*. Aquaculture, 252, 476–483.
- Webster C.D.,** Thompson, K.R., Morgan, A.M., Grisby, E.J. & Gannam, A.L. (2000) Use of hempseed meal, poultry by-product meal and canola meal in practical diets without fish meal for sunshine bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). Aquaculture, 188, 299–309.

5.ABSTRACT

Aquatic organisms in order to maintain their lives, develop and perform all their physiological functions they need proteins, lipids, minerals and vitamins. These nutrients are provided to the farmed organisms either by natural food or by the consumption of prepared food. One of the issues that concern the agriculture field is the possibility of the total or partial replacement of fishmeal and fish oil in the diet of farmed fishes with alternative sources of protein.

The experiment's main target was the examination and study of the effect of partial fishmeal replacement with poultry feather meal at the hematological parameters of the fishes. In the paper there was two diet groups, the "FM" was fed with market's diet and the "HFM50" that was fed with a diet of 50% fishmeal replacement with poultry feather meal. The profile of blood, glucose, cholesterol and triglyceride indicators is directly influenced by the body's diet, for this reason they have been selected as indicators for the valuation of the body's biophysical and biochemical functions. The results of the experiment have showed a drop in the values of all three parameters in the fishes that were fed with the food "HFM50", so we conclude that 50% replacement with poultry feather meal does not cover the nutritional needs of the fish.